Iranian Food Science and Technology Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 4, Oct.-Nov. 2024, p. 351-367

Comparison of the Effect of Sodium Nitrite and Nanocapsules Carrying Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with Maltodextrin-sodium Caseinate Combined Coating in Controlling Oxidative and Microbial Spoilage of Common Sausage

S. Reyhani Poul[1], S. Yeganeh[2*], R. Safari[3]

1- Ph.D. Graduate, Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(*- Corresponding Author Email: s.yeganeh@sanru.ac.ir)

3- Assistant Professor, Caspian Sea Ecology Research Institute, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education And Extention Organization, Sari, Iran

Received: 11.09.2022 Revised: 20.04.2023 Accepted: 28.04.2023 Available Online: 29.04.2023	**How to cite this article:** Reyhani Poul, S., Yeganeh, S., & Safari, R. (2023). Comparison of the effect of sodium nitrite and nanocapsules carrying astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with maltodextrin-sodium caseinate combined coating in controlling oxidative and microbial spoilage of common sausage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(4), 351-367. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78749.1202

Introduction

One of the synthetic and harmful preservatives used in sausage formulation is sodium nitrite. This compound helps to increase the shelf life and marketability of meat products by preventing the growth of anaerobic bacteria, especially clostridium, exerting an antioxidant effect, stabilizing the red color of meat and improving the taste. Despite these benefits, sodium nitrite is very dangerous for health and it can cause malignant diseases. For this reason, it is necessary to replace this substance using a natural preservative. Pigments extracted from aquatics such as astaxanthin due to having antioxidant activity, antimicrobial properties and pink color may be a good substitute for sodium nitrite. However, these pigments must be nanoencapsulated at first due to their sensitivity to food processing conditions, including high temperatures. The aim of the current research at the first was to extract astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* microalgae using the acid-acetone method and pigment nanoencapsulation using maltodextrin-sodium caseinate combined coating. Then, sodium nitrite in the sausage formulation was replaced by the carrier nanocapsules with different proportions and oxidative and microbial spoilage tests, color and sensory evaluations were performed for different treatments.

Materials and Methods

At first, astaxanthin pigment was extracted from *Haematococcus pluvialis* using the acid-acetone technique. Then, the extracted pigment was nanoencapsulated using maltodextrin-sodium caseinate combined coating and the resulting (carrier) nanocapsules in the form of treatments A (120 mg/kg sodium nitrite), B (120 mg/kg nanocapsules carrying astaxanthin), C (90 mg/kg sodium nitrite+30 mg/kg nanocapsules carrying astaxanthin), D (60 mg/kg sodium nitrite+60 mg/kg nanocapsules carrying astaxanthin) and E (30 mg/kg sodium nitrite+90 mg/kg nanocapsules carrying astaxanthin) were replaced sodium nitrite in the sausage formulation. These treatments were evaluated in terms of oxidative and microbial spoilage, color indices and sensory properties during 28 days of storage at refrigerator along with the control (without sodium nitrite and carrier nanocapsules). This research was conducted in a completely randomized design. Data were analyzed by one-way analysis of variance and the difference between the means was evaluated by Duncan's test at 95% confidence level.

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78749.1202

Results and Discussion

According to the results, the lowest levels of thiobarbituric acid and peroxide value during the storage period were related to treatments B, E and D ($p>0.05$). Treatments A and C had no significant difference in terms of thiobarbituric acid and peroxide value until day 14 ($p>0.05$), but with increasing storage time, this difference became significant and treatment A showed higher values ($p<0.05$). The results of this section showed that the power of astaxanthin in controlling oxidative spoilage is significantly greater than sodium nitrite, and if the purpose is only to control this type of spoilage, there is no need to replace or use sodium nitrite. The results also showed that in terms of controlling microbial spoilage, sodium nitrite has more power than nanocapsules carrying astaxanthin. So that, the lowest amount of total volatile basic nitrogen (TVB-N) and the most standardized pH were related to treatments A, C and D ($p>0.05$) during the storage period ($p<0.05$). Treatments B and E ($p>0.05$) were ranked next ($p<0.05$) in terms of the two mentioned indicators. The results of this section showed that if sodium nitrite reduced from 120 mg/kg to 60 mg/kg and replaced by nanocapsules carrying astaxanthin in the sausage formulation, the resulting product has the same antimicrobial power as the product containing 120 mg/kg sodium nitrite. Evaluation of the color and sensory properties of treatments showed that A, C and D treatments are at a higher level than B, E (treatments) and control in terms of color indices and general acceptance ($p<0.05$). The comparison of the color indices and sensory properties of the treatments on days 0 and 28 of storage at refrigerator showed that the color and sensory indices remained constant in the formulated treatments, unlike the control.

Conclusion

Nanocapsules carrying astaxanthin with maltodextrin-sodium caseinate combined coating as a natural product with many properties in health, control and prevention of various diseases, have a high efficiency to replace the sodium nitrite in sausage formulation. So that, if 30 to 60 mg/kg of the permissible limit of 120 mg/kg of sodium nitrite in the sausage formulation is replaced by nanocapsules carrying astaxanthin, the resulting product will be similar to the product containing 120 mg/kg of sodium nitrite in terms of shelf life, resistance to oxidative and microbial spoilage, color indices and sensory properties.

Keywords: *Haematococcus* microalgae, Nanocapsules carrying astaxanthin, Oxidative spoilage, Sausage, Sodium nitrite

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۴، مهر-آبان ۱۴۰۳، ص. ۳۶۷-۳۵۱

مقایسه اثر نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین میکروجلبک هماتوکوکوس (*Haematococcus pluvialis*) با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم در کنترل فساد اکسیداتیو و میکروبی سوسیس معمولی

سهیل ریحانی پول[۱]- سکینه یگانه[۲]*- رضا صفری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۸

چکیده

هدف تحقیق حاضر امکان‌سنجی جایگزینی نیتریت سدیم در فرمولاسیون سوسیس معمولی با استفاده از نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین بود تا از این طریق از مضرات سوسیس کاسته و به ارزش غذایی آن افزوده شود. به‌همین منظور پس از استخراج رنگدانه آستاگزانتین از میکروجلبک *هماتوکوکوس پلوویالیس* با استفاده از تکنیک اسید-استون و نانو ریزپوشانی آن با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم، نانوکپسول‌های حامل با نسبت‌های مختلف، جایگزین نیتریت سدیم در فرمولاسیون سوسیس معمولی شدند و تیمارهای حاصل از نظر اکسیداسیون، فساد میکروبی، شاخص‌های رنگی و خواص حسی طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد اثرگذاری نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در زمینه کنترل دو شاخص فساد اکسیداسیونی یعنی تیوباربیتوریک‌اسید و عدد پراکسید به‌صورت معنی‌داری بیشتر از نیتریت سدیم است ($p<0.05$) و کمترین حد این دو شاخص در تیمارهای دارای بیشترین میزان نانوکپسول‌های حامل ثبت شد. عکس این نتیجه در مورد بازهای ازته فرار و pH مشاهده شد؛ به این صورت که قدرت نیتریت سدیم در کنترل این دو شاخص به‌صورت قابل ملاحظه‌ای بیشتر از نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین بود ($p<0.05$). مطابق یافته‌ها، وقتی ۳۰ تا ۶۰mg/kg از ۱۲۰mg/kg حد مجاز نیتریت سدیم در فرمولاسیون سوسیس با نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین جایگزین شد، تیمارهای حاصل از نظر میزان و روند بازهای ازته فرار و pH طی دوره نگهداری با تیماری که صرفا حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم است، فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ($p>0.05$). در ادامه مشخص شد همین تیمارها از نظر شاخص‌های رنگی و ارزیابی حسی (رنگ، بو، طعم و بافت) تفاوت قابل ملاحظه‌ای با تیمار حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم ندارند ($p>0.05$) و بیشترین پذیرش کلی هم مربوط به همین تیمارها می‌باشد ($p<0.05$). بنابر یافته‌های تحقیق حاضر، نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین پتانسیل مطلوبی جهت جایگزینی نیتریت سدیم در فرمولاسیون سوسیس دارند.

واژه‌های کلیدی: سوسیس، فساد اکسیداتیو، میکروجلبک هماتوکوکوس، نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، نیتریت سدیم

مقدمه

با پیشرفت تکنولوژی در علوم و صنایع غذایی، همواره دغدغه حذف نگهدارنده‌های سنتتیک و مضر و جایگزینی آن‌ها با ترکیبات طبیعی وجود داشته و دارد. با حذف این ترکیبات مضر، نگرانی مصرف‌کنندگان در استفاده از انواع مختلف مواد غذایی کاهش می‌یابد که این امر به نوبه خود به بازایابی و افزایش فروش محصول کمک شایانی می‌نماید. امروزه با افزایش ساعات کاری افراد و به‌دنبال آن کمبود وقت جهت طبخ انواع غذا، مصرف فرآورده‌های مختلفی از جمله سوسیس و کالباس افزایش چشمگیری یافته است. این محصولات نیز به لحاظ دارا بودن نگهدارنده‌های سنتتیک و مضر مستثنی نیستند. نیترات و نیتریت سدیم از جمله این نگهدارنده‌ها هستند که در سوسیس و کالباس کاربرد

۱- دانش آموخته دکتری تخصصی، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۳- استادیار، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: s.yeganeh@sanru.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78749.1202

گسترده‌ای دارند که این مورد افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان و کاهش تمایل به خرید را موجب می‌شود. سوسیس و کالباس مانند سایر فرآورده‌های گوشتی دارای پایداری اکسیداتیو پائین و به تند شدن چربی در طی دوره نگهداری بسیار حساس هستند. بنابراین به‌منظور کنترل بار میکروبی و تغییرات اکسیداتیو، استفاده از برخی افزودنی‌ها (نیترات و نیتریت‌سدیم) در این فرآورده‌ها ضروری است (Sebranek *et al.*, 2005). نیترات و نیتریت‌سدیم در فرآورده‌های گوشتی با جلوگیری از رشد باکتری‌های بی‌هوازی به‌ویژه کلستریدیوم‌ها، اعمال اثر آنتی اکسیدانی، تثبیت رنگ قرمز گوشت و بهبود طعم به افزایش دوره نگهداری و بازارپسندی محصول کمک می‌کنند (Toldra *et al.*, 2009).

با همه مزایایی که از نیتریت سدیم ذکر شد، این ترکیب ممکن است در معده انسان با ترکیبات قابل نیتروزه‌شدن واکنش دهد که ماحصل آن بروز انواع بیماری‌های خطرناکی است که بشر در قرن حاضر با آن‌ها رو به رو است (Ferguson *et al.*, 2004). به همین دلیل سازمان‌های استاندارد، حد مشخصی را برای استفاده از نیتریت در فرآورده‌های گوشتی تعیین کرده‌اند. بر اساس استاندارد ملی شماره ۲۳۰۳ حداکثر مقدار مجاز نیتریت قابل استفاده در انواع سوسیس و کالباس ۱۲۰ppm می‌باشد. با توجه به نگرانی‌هایی که در زمینه استفاده از نیتریت سدیم در فرآورده‌های گوشتی وجود دارد، بنابراین پرداختن متخصصین حوزه صنایع غذایی برای یافتن جایگزینی مناسب، امری ضروری می‌باشد.

آستاگزانتین ($C_{40}H_{52}O_4$) رنگدانه‌ای از خانواده کاروتنوئیدها (از دسته ترپن‌ها) است و در حالت آزاد به رنگ‌های صورتی تا قرمز دیده می‌شود. این رنگدانه در جانوران دریایی مانند ماهی آزاد، ماهی قزل‌آلا، خرچنگ و میگو وجود دارد. ارزش اقتصادی آستاگزانتین بسیار بالا بوده و از آن بعنوان یک رنگ‌دهنده طبیعی، مکمل غذایی، عامل آنتی اکسیدان و ضد سرطان استفاده می‌شود (Ambati *et al.*, 2014). آستاگزانتین رنگدانه محلول در چربی است و در حلال‌هایی مانند استن، اتانول، کلروفرم و ... حل می‌شود. این رنگدانه بیشترین فعالیت بیولوژیکی در مقایسه با سایر کاروتنوئیدها را داراست. آستاگزانتین حاوی زنجیره بلند از پیوند دوگانه کونژوگه و گروه‌های کتونی و کربوکسیل می‌باشد. این ویژگی در آستاگزانتین موجب می‌گردد که فعالیت آنتی اکسیدانی آن افزایش یافته و رادیکال‌های آزاد به سرعت غیر فعال شوند. در مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین با سایر آنتی اکسیدان‌های طبیعی، محققان به این نتیجه رسیدند که آستاگزانتین در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد قوی‌تر از کاروتنوئیدهای دیگر نظیر بتاکاروتن عمل می‌کند و در جلوگیری از پراکسیداسیون استرهای متیلی اسیدهای چرب اشباع‌نشده مؤثرتر است. مطابق نتایج تحقیقات، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین ۱۰ برابر بیشتر از زاگزانتین[1]، لوتئین[2]، کانتاگزانتین[3]، بتاکاروتن[4] و ۱۰۰ برابر بیشتر از آلفا توکوفرول[5] می‌باشد (Miki, 1991). از کاربردهای آستاگزانتین در صنعت غذا علاوه بر تولید رنگ طبیعی در فرآورده‌های غذایی (Chen & Meyers, 1982) می‌توان به نقش آنتی‌اکسیدانی (Ambati *et al.*, 2014; Safari *et al.*, 2022a) و ضد میکروبی آن (Irna *et al.*, 2017; Suganya & Asheeba, 2015) اشاره کرد. تحقیقات مختلف، اثرات درمانی و دارویی آستاگزانتین را بررسی و نتایج مثبتی گزارش کرده‌اند. این رنگدانه دارای فعالیت ضد سرطانی (Tanaka *et al.*, 1994) است و در پیشگیری از بیماری قلبی-عروقی و التهابی (Tracy, 1999) و همچنین بهبود سلامت چشم (Jacques, 1999) کارائی دارد. اثرات ضد التهابی (Liu & Lee, 2003) و ضد دیابتی (Uchiyama *et al.*, 2002) آستاگزانتین نیز ثابت شده است.

با توجه به ویژگی‌های ذکرشده برای آستاگزانتین و مزایای آن، لازم است استفاده از آن به‌عنوان جایگزینی برای نیتریت‌سدیم در فرمولاسیون سوسیس مورد بررسی دقیق قرار گیرد. چرا که مطابق موارد ذکر شده در بالا، این رنگدانه می‌تواند با فساد اکسیداتیو و میکروبی مقابله کند. ضمن اینکه رنگی صورتی متمایل به قرمز دارد و احتمالا در ترکیب با سوسیس، به تثبیت رنگ صورتی (مانند نیتریت سدیم) کمک خواهد کرد. اما از آنجا که ساختار آستاگزانتین در فرم خالص ممکن است تحت تأثیر تیمارهای دمایی، آنزیمی، اسیدی، بازی و ... اعمال‌شده در روند تولید و نگهداری مواد غذایی (سوسیس) تخریب و در نتیجه عملکردش تغییر کند، استفاده از روشی جهت حفاظت از آن بسیار ضروری است. در صنعت غذا و دارو در چنین مواردی از تکنیک نانو ریزپوشانی استفاده می‌شود (Safari *et al.*, 2022b). طی این فرایند کپسولی اطراف رنگدانه را احاطه کرده و آن را در شرایط نامساعد از تغییرات احتمالی حافظت می‌کند. ضمن اینکه کپسول‌های تشکیل-شده اطراف رنگدانه در این تکنیک، محتویات خود را با سرعت کنترل-شده و شرایط ویژه رها می‌کنند.

هدف تحقیق حاضر در ابتدا استخراج آستاگزانتین از میکروجلبک *هماتوکوکوس پلوویالیس* با استفاده از روش اسید-استون و نانو ریزپوشانی رنگدانه با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات است. سپس نانوکپسول‌های تولیدشده با نسبت‌های مختلف جایگزین نیتریت

1- Zeaxanthin
2- Lutein
3- Canthaxanthin
4- Beta Carotene
5- Alfa Tocopherol

سدیم در فرمولاسیون سوسیس شده و آزمون‌های سنجش فساد اکسیداتیو و میکروبی برای تیمارهای مختلف انجام خواهد شد.

مواد و روش‌ها

استخراج، صابونی‌کردن و تخلیص آستاگزانتین

در تحقیق حاضر، بعد از تهیه پودر خالص میکروجلبک *هماتوکوکوس پلوویالیس* از شرکت پرتوغذای آبزیان سورنا (مازندران) و خرید مواد شیمیایی مورد نیاز، با استفاده از روش ترکیبی (پیش‌تیمار اولیه با اسیدکلریدریک و سپس استخراج با استون خالص) به استخراج آستاگزانتین اقدام شد (Sarada *et al*., 2006; Dong *et al*., 2014; Liu *et al*., 2018). پس از استخراج رنگدانه مذکور، به‌منظور هیدرولیز یا صابونی‌کردن آستاگزانتین و تبدیل فرم‌های مونواستر و دی‌استر آن به فرم آزاد، از روش دعوتی و همکاران (Dewati *et al*., 2020) استفاده گردید. بدین ترتیب که مخلوط حاوی سود ۰/۰۲ نرمال و عصاره حاوی رنگدانه به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و مکان تاریک قرار داده شد. بعد از پایان فرآیند هیدرولیز، غلظت آستاگزانتین با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و طول موج ۴۷۸ نانومتر قرائت گردید. به‌منظور خالص‌سازی آستاگزانتین از تکنیک کروماتوگرافی ستونی و روش‌های ارائه‌شده در تحقیقات یوعان و چن (Yuan & Chen, 2000)، کنگ و سیم (Kang & Sim, 2007) و سان و همکاران (Sun *et al*., 2015) استفاده شد.

نانو ریزپوشانی‌کردن آستاگزانتین

به‌منظور نانو ریزپوشانی آستاگزانتین، از پوشش ترکیبی مالتودکسترین و کازئینات سدیم با نسبت برابر استفاده و نسبت پوشش ها به هسته نیز ۴ به ۱ در نظر گرفته شد. ابتدا سوسپانسیون همگنی از مالتودکسترین در آب مقطر (۴ گرم در ۵۰ میلی‌لیتر) تهیه شد. سپس جهت تهیه پوشش دوم، سوسپانسیونی از کازئینات سدیم در آب مقطر (۴ گرم در ۵۰ میلی‌لیتر) ایجاد و با قراردادن بر روی همزن مغناطیسی و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه، سوسپانسیون همگنی از آن حاصل شد. محلول حاوی کازئینات سدیم (پس از کاهش دما به ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به محلول دارای مالتودکسترین اضافه و ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت افزایش جذب آب نگهداری گردید. در مرحله انتهایی، ۲ گرم آستاگزانتین به محلول حاوی پوشش‌ها اضافه و پس از حل‌شدن آن، جهت تولید نانوکپسول، از دستگاه اولتراسوند (Hilscher, UP200، آلمان) با طول موج ۴۰ کیلوهرتز به مدت ۱۵ دقیقه و تعداد ۶ سیکل (زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد. برای کاهش بیشتر اندازه ذرات و افزایش راندمان ذرات نانوکپسوله، از دستگاه هموژنایزر با دور بالا (اولتراتوراکس، IKa، ایتالیا) با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. محلول حاصل از فرآیند، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجمد و با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus، آلمان) در فشار ۰/۰۵۱ میلی‌بار و دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد خشک گردید (Yan *et al*., 2014; Machado *et al*., 2014; Safari *et al*., 2022).

تولید سوسیس

در مجموع ۶ نمونه سوسیس با مقادیر مشخص از نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین و نیتریت سدیم تولید شد (جدول ۱). ترکیبات اصلی سوسیس شامل گوشت سر و گردن گوساله (۶۰ درصد)، آب و یخ (۱۸/۵۱ درصد)، روغن سویا (۱۴ درصد)، نمک (۱/۵ درصد)، نشاسته (۲/۸ درصد)، ایزوله سویا (۱/۸ درصد)، فسفات سدیم (۰/۴ درصد)، آسکوربیک‌اسید (۰/۰۵ درصد) و ادویه (۰/۹ درصد) بود. تمام مواد مذکور با یکدیگر در کاتر (Seydelmann, Aalen) مخلوط و خمیر حاصله در بچ‌های جداگانه در کاتر به همراه نیتریت‌سدیم، نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین و آب و یخ باقیمانده ترکیب شد. در مرحله بعد، بچها در بسته‌های استریل پلی‌آمیدی به‌صورت جداگانه بسته‌بندی و به‌مدت یک ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد پخته شدند. نهایتا محصول تولیدشده بوسیله دوش آب سرد خنک و به یخچال با دمای ۱±۴ منتقل شد. دوره نگهداری ۲۸ روز بود و نمونه‌گیری جهت انجام آزمایشات میکروبی با فاصله ۷ روز انجام گردید (Khaleghi *et al*., 2013).

جدول ۱- تیمارهای تحقیق

Table 1- Research treatments

Treatments تیمارها	Sodium nitrite (mg/kg) نیتریت سدیم	Nanocapsules carrying astaxanthin (mg/kg) نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین
Control	–	–
A	120	–
B	–	120
C	90	30
D	60	60
E	30	90

ترکیب شیمیایی نمونه‌های سوسیس

سنجش ترکیب شیمیایی سوسیس‌های فرموله‌شده با مقادیر مختلف نیتریت‌سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین شامل پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر (در روز صفر) بر اساس روش AOAC انجام شد (AOAC, 2016).

ارزیابی شاخص تیوباربیتوریک‌اسید (TBARS[1])

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک‌اسید، ابتدا ۵ گرم نمونه در لوله‌هایی با حجم ۵۰ میلی‌لیتر با ۱۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه هموژن گردید. یک میلی‌لیتر از محلول حاصل جداسازی و در لوله‌ای جداگانه با ۵۰ میکرولیتر بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن و ۲ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید/تری‌کلرواستیک‌اسید (۲۰ میلی‌مولار تیوباربیتوریک‌اسید + ۱۵ درصد وزنی حجمی تری‌کلرواستیک‌اسید) مخلوط شد. مخلوط حاصل پس از ورتکس، به‌مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از طی‌شدن زمان مذکور، به مخلوط اجازه داده شد تا در دمای محیط خنک شود. در مرحله بعد، مخلوط مذکور ابتدا ورتکس و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و جذب نوری لایه بالایی در طول موج ۵۳۱ نانومتر قرائت شد. شاهد نیز حاوی ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۲ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید/تری‌کلرواستیک‌اسید بود. مقادیر تیوباربیتوریک‌اسید تیمارها بر حسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم سوسیس گزارش شد (Nam & Ahn, 2003).

تعیین عدد پراکسید تیمارها (PV[2])

به‌منظور سنجش عدد پراکسید تیمارها، ابتدا ۶۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۶۰ میلی‌لیتر متانول به دکانتور حاوی ۱۵ گرم نمونه اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت با افزودن ۳۶ میلی‌لیتر آب مقطر به دکانتور اجازه داده شد تا سه فاز تشکیل شود. ۲۰ میلی‌لیتر از فاز زیرین به یک ارلن منتقل و با ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و استیک‌اسید (با نسبت ۳ به ۲) ترکیب شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر یدور پتاسیم و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ترکیب حاصل اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱٪ وارد ارلن و درب آن بسته شد. بعد از تکان‌دادن ارلن، ید آزادشده رنگ محلول را تغییر داد. در انتها محلول حاصل با تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تیتر و عدد پراکسید از رابطه زیر بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم چربی محاسبه شد. در این رابطه V حجم تیوسولفات مصرفی، N نرمالیته و w وزن نمونه روغن است (Egan *et al*., 1997).

$$\text{(meq}_{O_2}\text{/kg) عدد پراکسید} = 100\ VN/W \quad (1)$$

تعیین مواد ازته فرار (TVB-N[3])

به‌منظور اندازه‌گیری میزان مواد ازته فرار در تیمارها، ابتدا ۱۰ گرم نمونه، ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و چند عدد گوی شیشه‌ای به بالن هضم دستگاه کلدال اضافه شد. سپس در ارلن گیرنده (زیر مبرد) مقدار ۲۵ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲ درصد و چند قطره معرف اضافه شد. در مرحله بعد بالن دستگاه تحت حرارت به‌مدت ۱۰ دقیقه به جوش آمد و عمل تقطیر از همین زمان تا ۲۵۰ دقیقه انجام شد. پس از قطع حرارت، محلول تقطیرشده به‌وسیله اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شد. در نهایت میزان مواد ازته فرار در سوسیس‌ها فرموله‌شده از رابطه زیر محاسبه شد. در این رابطه، V حجم اسید ۰/۱ نرمال مصرفی است (Goulas *et al*., 2005).

$$\text{TVB-N (mg/100g)} = 14 \times V \quad (2)$$

اندازه‌گیری pH تیمارها

به‌منظور سنجش pH نمونه‌های سوسیس، ابتدا ۸ میلی‌لیتر آب مقطر به ۲ گرم نمونه اضافه و به مدت یک دقیقه هموژن شد. اندازه گیری pH مخلوط حاصل با استفاده از دستگاه پی‌اچ متر دستی (Oakton, Malaysia) انجام شد (AOAC, 2016).

ارزیابی رنگ و تغییرات آن در سوسیس

آنالیز رنگ برای نمونه‌های سوسیس با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (IMG- pardazesh cam- system XI) در سیستم CIE انجام گرفت. شاخص‌های مورد استفاد *L، *a، *b (به‌ترتیب شاخص روشنی، قرمزی، زردی) بودند (Kunte *et al*., 1997).

ارزیابی ویژگی‌های حسی سوسیس فرموله‌شده

به‌منظور ارزیابی خواص حسی از تعداد ۱۵ نفر از کارشناسان صنایع غذایی متشکل از ۷ مرد و ۸ زن با بازه سنی ۲۵ تا ۴۰ سال (شاغل در کارخانه) استفاده شد (ارزیابان از قبل، آموزش‌های تئوری و عملی لازم جهت امتیازدهی و تشخیص ویژگی‌های حسی را گذارنده بودند). تیمارهای تحقیق پس از سرخ‌شدن در روغن سرخ‌کردنی در دمای محیط سرد شدند. سوسیس‌ها به قطعات با ضخامت ۵ سانتی‌متر برش و در ظروف یکبار مصرف قرار داده شدند. ارزیابی حسی به‌وسیله آزمون هدونیک ۹ نقطه‌ای (۹: بسیار مناسب، ۸: تا حدود زیادی مناسب، ۷:

1- Thiobarbituric acid reactive substance
2- Peroxide value
3- Total volatile basic nitrogen

مناسب، ۶: نسبتا مناسب، ۵: نه مناسب و نه نامناسب، ۴: نسبتا نامناسب، ۳: نامناسب، ۲: تا حدود زیادی نامناسب، ۱: بسیار نامناسب) انجام شد (Khaleghi *et al.*, 2013).

تجزیه و تحلیل آماری

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way Anova) و آزمون دانکن (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) استفاده شد. از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) برای آنالیز داده‌ها و نرم‌افزار EXCEL (نسخه ۲۰۱۹) جهت رسم جداول و اشکال استفاده گردید. لازم به ذکر است که آزمون‌های مورد بررسی به‌منظور ارزیابی خصوصیات مختلف تیمارها در سه تکرار انجام شدند.

نتایج

ویژگی‌های فیزیکی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

نتایج مربوط به خواص فیزیکی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در جدول ۲ ارائه شده است. مطابق این جدول میانگین سایز ذرات ۲۶۹/۱±۳/۹۵ نانومتر، شاخص پراکندگی آن‌ها ۰/۴۲۳±۱/۲۸ و پتانسیل زتای سطح نانوکپسول‌ها ۴۶/۷۱±۲/۸۸+ میلی‌ولت است. همچنین بازده ریزپوشانی فرآیند ۸۵/۱۹±۴/۰۹ درصد ثبت شد. در پژوهش صفری و همکاران (Safari *et al.*, 2022) که رنگدانه فیکوسیانین استخراج‌شده از میکروجلبک اسپیرولینا با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم نانو ریزپوشانی و در فرمولاسیون بستنی استفاده شد، نانوکپسول‌های تولیدشده دارای میانگین سایز ۳۹۷/۱ نانومتر بودند که نسبت به نانوکپسول‌های تحقیق حاضر اندازه‌ای بزرگتر داشتند. همچنین در تحقیق مذکور بازده ریزپوشانی فرآیند ۷۳/۴۱ درصد ثبت شد که به‌صورت قابل ملاحظه‌ای کمتر از این شاخص در پژوهش حاضر می‌باشد.

جدول ۲- خواص فیزیکی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Table 2- Physical properties of nanocapsules carrying astaxanthin

Physical properties **خواص فیزیکی**	**Level** **سطح**
Average particle size (nm) میانگین سایز ذرات	269.1±3.95
Particle dispersity index شاخص توزیع اندازه ذره‌ای	0.423±1.28
Zeta potential (mv) پتانسیل زتا	+46.71±2.88
Encapsulation efficiency (%) بازده ریزپوشانی	85.19±4.09

ترکیب شیمیایی تیمارها

جدول ۳، ترکیب شیمیایی شاهد و سوسیس‌های فرموله‌شده با مقادیر مختلف نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین را نشان می‌دهد (مربوط به روز صفر). مطابق این جدول، میزان تقریبی پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر سوسیس‌ها به‌ترتیب ۱۸/۱، ۱۵، ۶۱ و ۵/۱ درصد است. ضمن اینکه شاهد و تیمارهای فرموله‌شده از نظر ترکیب شیمیایی اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشتند (p>۰/۰۵). در تحقیقی که از آستاگزانتین در فرمولاسیون سوسیس‌های گوشت خوک استفاده شد، مقادیر پروتئین، چربی و رطوبت تیمارها به‌ترتیب حدود ۱۵، ۱۴/۵ و ۶۱ درصد گزارش شد که میزان پروتئین این سوسیس‌ها از تیمارهای تحقیق حاضر کمتر است (Mohammadpourfard *et al.*, 2021). سوسیس‌های تولیدشده (گوشت گوساله) در پژوهش نوربهشت و همکاران (Nourbehesht *et al.*, 2019) به‌ترتیب دارای حدود ۳۳، ۱۹ تا ۳۰، ۵۴ تا ۶۱ و ۶ درصد پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر بودند که مقادیر پروتئین و چربی این سوسیس‌ها از سوسیس‌های تحقیق حاضر بیشتر است. ترکیب شیمیایی سوسیس به میزان و نوع مواد اولیه (بخصوص گوشت و چربی) جهت تولید بستگی دارد و احتمالا علت اختلاف در ترکیب شیمیایی تیمارهای تحقیق حاضر با سوسیس‌های تولیدشده در دو پژوهش مذکور مربوط به این مورد است.

جدول ۳- ترکیب شیمیایی تیمارهای تحقیق

Table 3- Chemical composition of research treatments

Treatments تیمارها	Protein پروتئین	Fat چربی	Moisture رطوبت	Ash خاکستر
Control	18.21±0.75[a]	14.95±0.28[a]	61.12±1.19[a]	5.12±0.14[a]
A	18.01±1.66[a]	14.89±0.63[a]	60.98±1.49[a]	5.18±0.15[a]
B	18.25±0.98[a]	14.93±0.81[a]	61.08±0.52[a]	5.15±0.27[a]
C	18.09±0.84[a]	15.03±0.24[a]	61.01±0.74[a]	5.16±0.31[a]
D	18.1±0.57[a]	14.9±1.39[a]	60.92±1.15[a]	5.14±0.29[a]
E	18.24±0.63[a]	15.02±0.21[a]	61.04±0.11[a]	5.19±0.46[a]

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (p>۰/۰۵).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

The same letters in each column indicate that there is no difference between the data (p>0.05).

Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

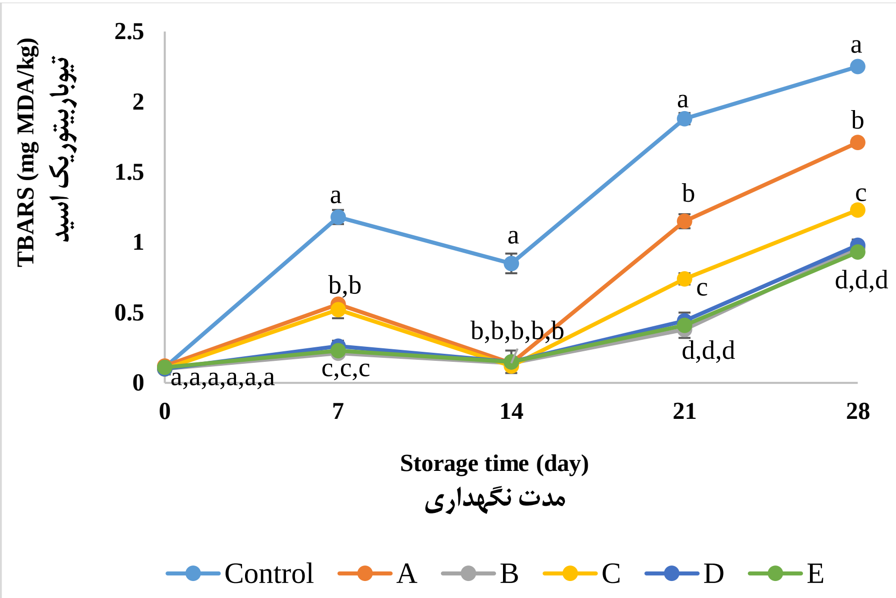
بررسی روند فساد اکسیداتیو سوسیس‌ها

عدد تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

عدد تیوباربیتوریک‌اسید، شاخصی جهت سنجش اکسیداسیون چربی‌ها و در واقع میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید تولیدشده در یک کیلوگرم نمونه است که در پایان اکسیداسیون چربی‌ها تولید می‌گردد. شکل ۱ روند تغییرات شاخص تیوباربیتوریک‌اسید را در تیمارهای تحقیق نشان می‌دهد. مطابق این شکل طی روزهای نگهداری، حداکثر (p<۰/۰۵) شاخص تیوباربیتوریک‌اسید در تیمار شاهد و حداقل (p<۰/۰۵) آن در تیمارهای B، D و E ثبت شد. در واقع تیمارهای مذکور از نظر شاخص مورد بررسی طی دوره نگهداری فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (p>۰/۰۵). در ادامه مشخص شد در روز ۱۴، همه تیمارهای فرموله‌شده از نظر عدد تیوباربیتوریک‌اسید در یک سطح قرار دارند (p>۰/۰۵). مطابق نتایج، دو تیمار A و C تا اواسط دوره (روز ۱۴)، مقادیر تیوباربیتوریک‌اسید برابری داشتند و نمودار آن‌ها بر هم منطبق بود (p>۰/۰۵) اما از روز ۱۴ به بعد، اختلاف این دو تیمار از نظر شاخص مورد نظر معنی‌دار شد و تیمار C سطح تیوباربیتوریک‌اسید کمتری نشان داد (p<۰/۰۵). یافته‌های این بخش نشان داد که نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در زمینه جلوگیری از فساد اکسیداتیو (کاهش تیوباربیتوریک‌اسید)، قوی‌تر از نیتریت سدیم هستند. به این صورت‌که تیمار حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین (B) نسبت به تیمار دارای ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت‌سدیم (A) در طول دوره نگهداری همواره حاوی تیوباربیتوریک‌اسید کمتری بوده است. همچنین مقادیر تیوباربیتوریک‌اسید دو تیمار A و C در روزهای ۱۴ به بعد نشان داد که اگر فقط ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حد مجاز نیتریت سدیم کم و با نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین جایگزین شود (C)، نتایج مطلوب‌تری در زمینه کنترل فساد اکسیداتیو ثبت خواهد شد.

این یافته‌ها مؤید آن هستند که آستاگزانتین یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی است که در مقدمه به تفصیل به آن اشاره شد (Miki, 1991). اگرچه تیمارهای حاوی ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت سدیم (E و D) هم با تیمار حاوی صرفا نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین از نظر مقابله با فساد اکسیداتیو توانایی یکسانی داشتند اما به‌دلیل مضر بودن نیتریت‌سدیم برای سلامتی، دیگر نیازی به این جایگزینی نیست (البته اگر هدف صرفا مقابله با فساد اکسیداتیو باشد). نتایج پژوهشی که طی آن از آستاگزانتین خالص در فرمولاسیون سوسیس خوک جهت افزایش ماندگاری در دمای یخچال استفاده شد نشان داد که تیمار حاوی آستاگزانتین در کل دوره، محتوی تیوباربیتوریک‌اسید کمتری است که این یافته با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Seo *et al.*, 2021). در تحقیق دیگری از آستاگزانتین در فرمولاسیون سوسیس پروبیوتیک استفاده شد و طی ۴۵ روز نگهداری در دمای یخچال، فرآیند فساد اکسیداتیو ارزیابی گردید. یافته‌ها حاکی از کاهش معنی‌دار عدد تیوباربیوریک‌اسید در تیمار حاوی آستاگزانتین نسبت به شاهد بود (Mohammadpourfard *et al.*, 2021). عبدالمالک و همکاران (Abdelmalek *et al.*, 2016) طی تحقیقی از آستاگزانتین استخراج شده از میگو جهت تأخیر در فساد استیک مرغ نگهداری‌شده در دمای یخچال (به‌مدت ۷ روز) استفاده کردند. نتایج نشان داد که تیمار حاوی آستاگزانتین نسبت به شاهد به‌صورت معنی‌داری حاوی مقادیر کمتری از تیوباربیتوریک‌اسید است و لذا این رنگدانه می‌تواند فساد اکسیداتیو را به تأخیر بیندازد که این نتیجه هم یافته‌های پژوهش حاضر را تائید می‌کند. حد مجاز تیوباربیتوریک‌اسید در فرآورده‌های گوشتی ۱ یا ۲ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید بر کیلوگرم است (Moarefian *et al.*, 2011). البته برخی از محققین معتقدند در مواد غذایی با کیفیت بالا، خوب و قابل مصرف، میزان این شاخص به‌ترتیب باید کمتر از ۳، ۵ و

۸ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید بر کیلوگرم باشد. در مورد فرآورده‌های شیلاتی (دریایی)، میزان تیوباربیتوریک‌اسید کمتر از ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم نمونه قابل قبول است (Cadun *et al.*, 2005). بنابراین اطلاعات، همه تیمارهای فرموله‌شده تا روز ۲۸ از نظر شاخص مذکور در حد استاندارد قرار دارند. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، شاخص تیوباربیتوریک‌اسید همه تیمارها در روز ۱۴ کاهش محسوسی داشته است. این یافته با سایر تحقیقات انجام‌شده در این زمینه مطابقت دارد (Ghiretti *et al.*, 1997; Georgantelis *et al.*, 2007). این مورد می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد. مورک و بال (Moerck & Ball, 1974) اعتقاد دارند که تخریب مالون‌دی‌آلدهید حد فاصل روزهای ۹ تا ۲۳ بوسیله برخی از میکروارگانیسم‌ها علت کاهش تیوباربیتوریک‌اسید است. دلیل احتمالی دیگر مربوط به اکسیداسیون مالون‌دی‌آلدهید به الکل و اسید می‌باشد که در نتیجه آن مالون‌دی آلدهید لازم برای واکنش با تیوباربیتوریک‌اسید کاهش می‌یابد (Fernández-López, 1997). ضمن اینکه واکنش مالون‌دی‌آلدهید با ترکیبات قندی و پروتئینی سوسیس می‌تواند موجب کاهش ماده جهت واکنش با تیوباربیتوریک‌اسید شود (Georgantelis *et al.*, 2007).



شکل ۱- مقادیر تیوباربیتوریک‌اسید تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید بر کیلوگرم)

حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (p<۰/۰۵).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Fig. 1. TBARS value of research treatments during the storage period (mg MDA/Kg)

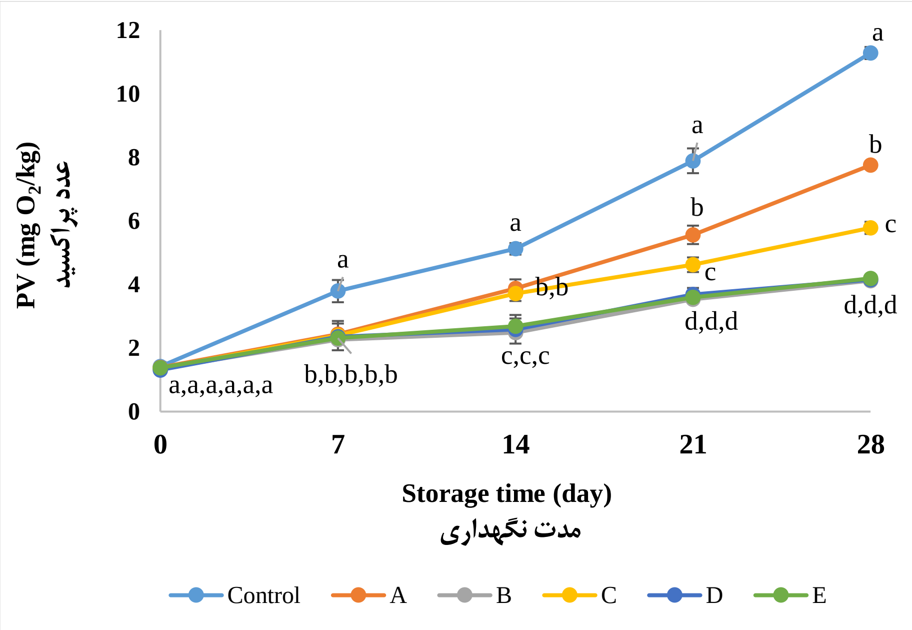
Different letters in each day indicate significant difference between the data (p<0.05).

Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

عدد پراکسید (PV)

عدد پراکسید شاخصی جهت تشخیص میزان هیدروپراکسیدها که محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هستند، می‌باشد. در شکل ۲ مقادیر عدد پراکسید سوسیس‌های فرموله‌شده و شاهد ارائه شده است. همانطور که در این شکل مشاهده می‌شود، بیشترین (p<۰/۰۵) مقادیر عدد پراکسید طی دوره نگهداری مربوط به شاهد و کمترین (p<۰/۰۵) حد این شاخص مربوط به تیمارهای B، D و E است و این تیمارها در این زمینه فاقد اختلاف معنی‌دار هستند (p>۰/۰۵). البته تا روز ۷، تیمارهای A و C نیز با سه تیمار مذکور از نظر عدد پراکسید اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (p>۰/۰۵). اما از روز ۷ به بعد، این اختلاف معنی‌دار شد (p<۰/۰۵). مطابق شکل ۲، دو تیمار A و C در روز ۱۴ هم عدد پراکسید یکسانی داشتند (p>۰/۰۵) اما در روزهای ۲۱ و ۲۸، اختلاف عدد پراکسید این دو تیمار معنی‌دار شد و تیمار A، عدد پراکسید بیشتری نشان داد (p<۰/۰۵). یافته‌های عدد پراکسید نیز مانند

تیوباربیتوریک‌اسید مؤید آن است که کارائی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در مهار فرایند فساد اکسیداتیو بسیار بیشتر از نیتریت‌سدیم است. نتایج نشان داد که اگر از ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوکپسول های حامل آستاگزانتین، تا حد ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با نیتریت سدیم در فرمولاسیون سوسیس جایگزین شود، قدرت این محصول در مقابله با فساد اکسیداتیو تغییری نخواهد کرد. اما از آنجا که در شاخص پراکسید هم تیمار حاوی صرفا نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین (۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به تیمار دارای صرفا نیتریت‌سدیم (۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در زمینه مقابله با فساد اکسیداتیو مؤثرتر بود، و با توجه به مضرات نیتریت‌سدیم، دیگر نیازی به جایگزینی نیست (البته اگر هدف صرفا مقابله با فساد اکسیداتیو باشد). سئو و همکاران (Seo et al., 2021) در پژوهشی به‌منظور مقابله با فساد اکسیداتیو سوسیس خوک طی ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد)، از آستاگزانتین در فرمولاسیون محصول استفاده کردند. یافته‌های تحقیق مذکور نشان داد که عدد پراکسید تیمار حاوی آستاگزانتین در طول دوره نگهداری به‌صورت معنی‌داری کمتر از شاهد و از ۲/۱۴ در روز یک تا ۶/۵۲ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم لیپید در روز ۲۱ متغیر بود. در تحقیق حاضر، حداکثر مقادیر پراکسید در تیمارهای فرموله‌شده (روز ۲۸) حدود ۴/۱۵ (در تیمارهای B، D و E)، ۵/۷۸ (تیمار C) و ۷/۷۵ (تیمار A) میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم لیپید ثبت شد. این شاخص در شاهد از ۱/۴۲ (روز صفر) تا ۱۱/۲۸ (روز ۲۸) میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم لیپید متفاوت بود. حد مجاز عدد پراکسید برای مواد غذایی چرب مانند سوسیس، ۲۵ میلی‌گرم پراکسید در کیلوگرم لیپید است (Sallam *et al.*, 2004). بنابراین همه تیمارهای تحقیق (حتی شاهد) در طول مدت نگهداری از نظر عدد پراکسید در بازه استاندارد قرار دارند. ضمن اینکه هیدروپراکسیدها به تنهایی موجب تغییرات در طعم، بو و مزه محصول نمی‌شوند اما تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه مانند آلدهیدها، خواص حسی سوسیس‌ها را تحت تأثیر قرار خواهد داد.



شکل ۲- عدد پراکسید تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری (میلی‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم)

حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($p<0.05$).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Fig. 2. Peroxide value of research treatments during the storage period (mg O_2 /Kg)

Different letters in each day indicate significant difference between the data (p<0.05).

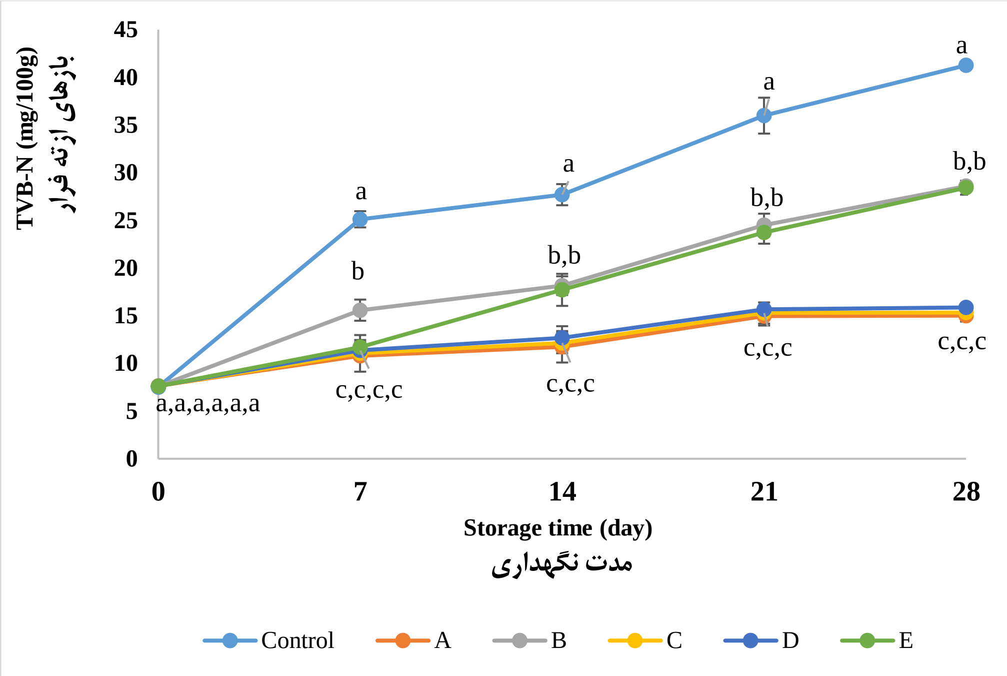
Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

بازهای ازته فرار (TVB-N)

بازهای ازته فرار حاصل فساد و تجزیه مولکول‌های پروتئینی و اسیدهای آمینه هستند که در اثر فعالیت‌های میکروبی و آنزیم‌های اتولیتیک تولید می‌شوند. از جمله این بازها می‌توان به آمونیاک، آمونیوم، مونومتیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین، نوکلئوتیدها و ... اشاره که تجمع آن‌ها در سوسیس می‌تواند ویژگی‌های کیفی آن (طعم، بو و مزه) را تحت تأثیر قرار دهد (Duan *et al*., 2010). شکل ۳، میزان بازهای ازته فرار تیمارهای تحقیق را نشان می‌دهد. مطابق این شکل، بیشترین میزان مواد ازته فرار در طول دوره نگهداری در تیمار شاهد و کمترین مقادیر این شاخص در تیمارهای A، C و D ($p>0.05$) ثبت شد ($p<0.05$). در واقع سه تیمار مذکور از نظر مواد ازته فرار در کل دوره نگهداری اختلاف معنی داری نداشتند ($p>0.05$). تیمار E نیز تا روز ۷ از این نظر با سه تیمار مذکور اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه نکرد ($p>0.05$). اگر چه مقادیر بازهای ازته فرار در تیمار E نسبت به تیمار B کمتر بود اما این اختلاف فقط در روز ۷ به‌صورت معنی‌دار ثبت شد ($p<0.05$). در تیمار شاهد، میزان بازهای ازته فرار از روز ۷ به بعد از حد مجاز که در واقع ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه است (Gimenez *et al*, 2002; Kilincceker *et al*., 2009) عبور کرد. حتی اگر حداکثر حد مجاز این شاخص را ۳۵–۳۰ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه در نظر بگیریم (Jeya *et al*., 2005)، باز هم در روزهای مذکور تیمار شاهد برای مصرف، استاندارد نیست چرا که در روزهای ۲۱ و ۲۸ میزان شاخص مورد بررسی به‌ترتیب ۳۵/۹۸ و ۴۱/۲۶ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه اندازه گیری شده است. اما در تیمارهای فرموله‌شده در کل دوره نگهداری مقادیر بازهای ازته فرار در بازه استاندارد قرار دارد که این یافته مؤید آن است که نیتریت‌سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین چه به‌صورت منفرد و چه به‌صورت ترکیبی قادر به مهار فعالیت‌های میکروبی فسادزا هستند. حداکثر مقادیر بازهای ازته فرار در تیمارهای فرموله‌شده تحقیق پیش‌رو (روز ۲۸) حدود ۱۵/۵ (تیمارهای A، C و D) و ۲۸/۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه (تیمارهای B و E) ثبت شد. برخلاف دو شاخص سنجش فساد اکسیداتیو که یافته‌های مربوطه نشان از کارائی بیشتر نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین نسبت به نیتریت‌سدیم داشت، در شاخص بازهای ازته فرار مشخص شد که نیتریت‌سدیم قدرت بالاتری برای مقابله با فساد میکروبی دارد. با توجه به این نتیجه و همچنین کارائی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در کنترل بازهای ازته فرار، جایگزینی بخشی از نیتریت سدیم با نگهدارنده طبیعی مورد بررسی توجیه‌پذیر است. نتایج تحقیق پیش‌رو نشان داد که اگر از ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حد مجاز نیتریت سدیم تا حد ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن با نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین جایگزین گردد، ترکیب حاصل، همان قدرت ضد میکروبی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت‌سدیم را دارد. نکته مهم در این بخش این است که با توجه به مفید بودن آستاگزانتین برای سلامتی و متعاقبا عدم وجود محدودیت در میزان مصرف، اگر نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در غلظتی بالاتر از ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سوسیس استفاده شوند (به شرط عدم تغییر خواص حسی)، شاید دیگر نیازی به نیتریت‌سدیم و جایگزینی نباشد. البته این احتمال می‌تواند به‌عنوان موضوعی برای تحقیقات آتی محققین مورد ارزیابی قرار گیرد. بر فرض که اگر چنین نتیجه‌ای تائید گردد، باید مقرون‌به‌صرفه‌بودن تولید نانوکپسول های حامل آستاگزانتین نسبت به قیمت تجاری نیتریت‌سدیم نیز بررسی شود. در تحقیقی که خصوصیات میکروبی سوسیس پروبیوتیک حاوی مقادیر مختلف آستاگزانتین، تیمول و نیتریت بررسی شد، مشخص شد که میزان بازهای ازته فرار در تیمار دارای آستاگزانتین به‌صورت قابل ملاحظه-ای کمتر از شاهد است که این یافته هم مانند تحقیق حاضر، قابلیت آستاگزانتین را برای مقابله با فساد میکروبی تائید کرد (Mohammadpourfard *et al*., 2021).

pH

نتایج مربوط به pH تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری در شکل ۴ ارائه شده است. مطابق این شکل بیشترین میزان pH ($p<0.05$) در کل دوره مربوط به تیمارهای A، C و D است و این سه تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌داری از نظر pH ندارند ($p>0.05$). البته دو تیمار B و E نیز تا روز ۷، مقادیر برابر با سه تیمار مذکور ارائه کردند ($p>0.05$) اما در روزهای بعد، اختلافات این دو دسته تیمار معنی‌دار شد و تیمارهای B و E ضمن عدم اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ($p>0.05$)، pH کمتری نسبت به تیمارهای A، C و D نشان دادند ($p<0.05$). کمترین میزان pH نیز در کل دوره نگهداری در شاهد ثبت شد ($p<0.05$). در تیمارهای فرموله‌شده در طول دوره نگهداری میزان pH در بازه ۵/۸۵ تا ۶/۲۵ قرار داشت که این یافته با پژوهش نوربهشت و همکاران (Nourbehesht *et al*., 2019) مطابقت دارد. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، میزان pH شاهد و تیمارهای فرموله‌شده در روز ۲۱ با شیب تندی کاهش یافت. دلیل احتمالی این مورد می‌تواند تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها و همچنین اکسیداسیون لیپید و ایجاد ترکیبات اسیدی باشد (Liu *et al*., 2009). افزایش pH پس از روز ۲۱ را می‌توان به افزایش فعالیت باکتری‌هایی نظیر انتروباکتریاسه و سودوموناس‌ها و همچنین مخمرها و کپک‌ها نسبت داد که در نتیجه فعالیت‌های این میکروارگانیسم‌ها، پروتئین‌ها تجزیه و ترکیبات افزایش‌دهنده pH مانند آمونیوم، آمونیاک، تری‌متیل‌آمین تولید می‌شوند (Georgantelis *et al*., 2007; Kilincceker *et al*, 2009). کاهش تند pH در میانه دوره نگهداری و سپس افزایش آن در سایر تحقیقات نیز گزارش شده است (Sallam *et al*., 2004; Georgantelis *et al*., 2007).



شکل ۳- مقادیر بازهای ازته فرار تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم)

حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (p<۰/۰۵).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Fig. 3. TVB-N value of research treatments during the storage period (mg/100g)

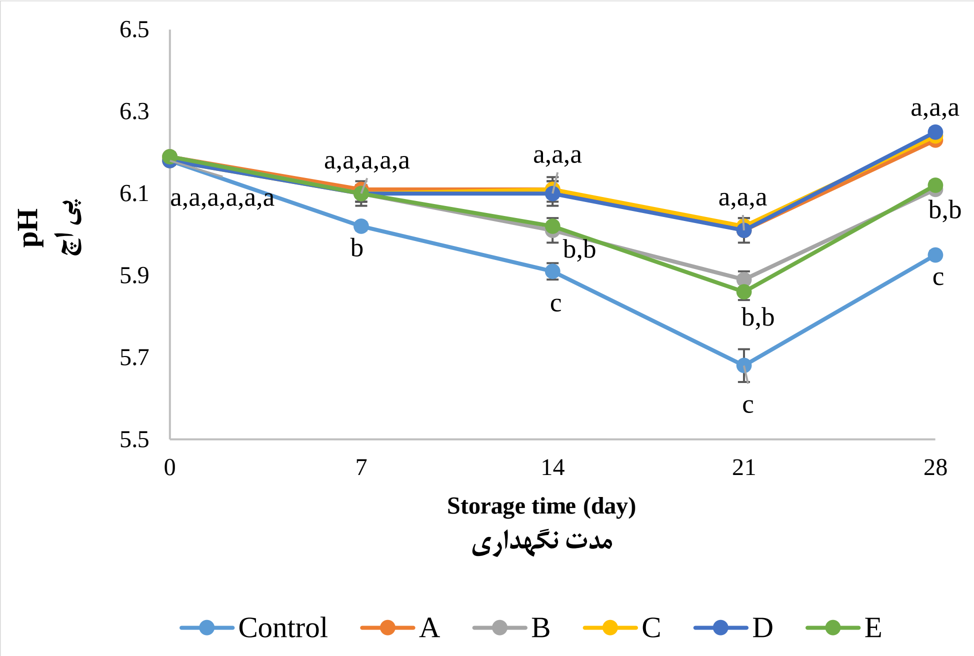
Different letters in each day indicate significant difference between the data (p<0.05).

Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

ارزیابی رنگ تیمارها

رنگ فرآورده‌های گوشتی و به‌طور کلی محصولات غذایی بر بازارپسندی آن تأثیر بسزایی دارد. جدول ۴، شاخص‌های رنگی سوسیس‌های فرموله‌شده و شاهد را در روزهای صفر و ۲۸ نشان می‌دهد. مطابق این جدول با اضافه‌کردن نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین و نیتریت‌سدیم به فرمولاسیون، شاخص‌های روشنایی (L^*) و زردی (b^*) در همه تیمارهای فرموله‌شده نسبت به شاهد (روز صفر) کاهش یافتند (p<۰/۰۵). اما شاخص قرمزی (a^*) به‌صورت معنی‌داری بیشتر شد (p<۰/۰۵). در بین تیمارهای فرموله‌شده، دو تیمار B و E از نظر هر سه شاخص رنگی اختلاف معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). وضعیت مشابهی بین تیمارهای A، C و D ثبت شد (p>۰/۰۵) اما مقادیر هر سه شاخص رنگی در این سه تیمار، بیشتر از تیمارهای B و E بود (p<۰/۰۵). مقایسه شاخص‌های رنگی تیمارها در روزهای صفر و ۲۸ نشان داد که در تیمارهای فرموله‌شده، شاخص‌های رنگی در طول دوره نگهداری، ثابت و بدون تغییر معنی‌دار باقی ماندند (p>۰/۰۵) اما این شاخص‌ها در شاهد به‌صورت قابل ملاحظه‌ای کاهش یافتند (p<۰/۰۵). احتمالا عدم تغییر رنگ در تیمارهای فرموله‌شده به‌دلیل حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب است که از فساد محصول و متعاقبا از تغییر رنگ آن طی دوره نگهداری جلوگیری می‌کنند.

نتایج این بخش نشان داد که اولا؛ نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین به تنهایی می‌توانند به ارتقا و بهبود شاخص رنگی سوسیس کمک کنند اما از این نظر قابلیت کمتری نسبت به نگهدارنده سنتتیک نیتریت سدیم دارند. دوما؛ اگر از ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت‌سدیم (حد مجاز) تا حد ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین جایگزین شود، شاخص‌های رنگی محصول حاصل با تیماری که صرفا حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت‌سدیم است، برابری می‌کنند؛ ضمن اینکه از مضرات نیتریت سدیم کم و به ایمنی سوسیس برای سلامتی اضافه می‌شود.



شکل ٤- pH تیمارهای تحقیق در طول دوره نگهداری

حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (p<۰/۰۵).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Fig. 4. pH of research treatments during the storage period

Different letters in each day indicate significant difference between the data (p<0.05).

Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

عبدالمالک و همکاران (Abdelmalek *et al.*, 2016) طی تحقیقی به‌منظور بهبود رنگ استیک مرغ (نگهداری‌شده در دمای یخچال به‌مدت ۷ روز) از آستاگزانتین استخراج‌شده از ضایعات میگو[1] در فرمولاسیون استفاده کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از آستاگزانتین تغییر معنی‌داری در شاخص‌های رنگی ایجاد نمی‌کند که این یافته مغایر با نتیجه تحقیق حاضر است. در پژوهش دیگری که از آستاگزانتین در فرمولاسیون سوسیس امولسیون‌شده استفاده شد، کاهش شاخص روشنایی و افزایش شاخص قرمزی گزارش شد که این نتیجه با پژوهش پیش رو مطابقت دارد (Seo *et al.*, 2021).

ارزیابی حسی سوسیس‌ها

هر ترکیب سودمندی که با اهداف مختلف (آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب، غنی‌کننده و ...) در فرمولاسیون مواد غذایی استفاده می‌شود تا جایی کارایی دارد که بر ویژگی‌های حسی آن ماده غذایی اثرات منفی اعمال نکند. به همین دلیل همواره در صنعت غذا ارزیابی حسی فرآورده‌های غذایی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. نتایج ارزیابی حسی سوسیس‌های فرموله‌شده با مقادیر مختلف نیتریت‌سدیم و نانو کپسول‌های حامل آستاگزانتین در جدول ۵ ارائه شده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود سه تیمار A، C و D از نظر شاخص‌های رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی اختلاف قابل ملاحظه‌ای نشان ندادند (p>۰/۰۵). در مورد شاخص بافت، تیمارهای B و E (p>۰/۰۵) نیز با سه تیمار مذکور اختلاف معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). این دو تیمار از نظر رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی، امتیازهای تقریبا برابری کسب کردند (p>۰/۰۵). همچنین از نظر ارزیابان، این دو تیمار و شاهد از نظر شاخص‌های بو و طعم فاقد اختلاف معنی‌داری بودند (p>۰/۰۵). مطابق جدول ۵، همه تیمارهای فرموله‌شده در شاخص‌های رنگ، بافت و پذیرش کلی نسبت به شاهد امتیازات بیشتری کسب کردند (p<۰/۰۵). این وضعیت در تیمارهای A، C و D برای شاخص‌های بو و طعم نیز برقرار بود. به صورت خلاصه و مطابق

1- *Parapenaeus longirostris*

یافته‌ها، تیمارهای A، C و D در همه شاخص‌های حسی مورد مطالعه و متعاقبا در پذیرش کلی در سطح بالاتری از شاهد و دو تیمار B و E قرار داشتند (به غیر از شاخص بافت که همه تیمارهای فرموله‌شده از نظر ارزیابان ارزش و امتیاز برابری داشتند).

جدول ٤- ارزیابی شاخص‌های رنگی تیمارهای تحقیق

Table 4- Color indices evaluation of research treatments

Treatments تیمارها	Time (day) زمان	L^* روشنایی	a^* قرمزی	b^* زردی
Control	0	65.28±0.05[a]	6.84±0.01[c]	25.63±0.21[a]
	28	41.73±0.64[d]	4.21±0.08[d]	15.34±0.09[c]
A	0	59.15±0.61[b]	14.38±0.19[a]	18.42±0.33[b]
	28	58.97±0.76[b]	14.11±0.69[a]	18.21±0.84[b]
B	0	54.12±0.47[c]	11.14±0.44[b]	12.14±0.48[d]
	28	53.93±0.85[c]	11.12±0.71[b]	12.29±0.26[d]
C	0	58.98±1.03[b]	14.33±0.64[a]	18.45±0.62[b]
	28	58.95±0.77[b]	14.12±045[a]	18.11±0.84[b]
D	0	59.12±1.06[b]	14.26±0.51[a]	18.15±0.39[b]
	28	58.99±0.38[b]	14.21±0.85[a]	18.29±1.01[b]
E	0	54.19±0.23[c]	11.11±0.75[b]	12.1±0.41[d]
	28	54.1±0.87[c]	11.15±0.42[b]	11.96±0.53[d]

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (p<۰/۰۵).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Different letters in each column indicate significant difference between the data (p<0.05).

Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

نتایج این بخش مؤید آن است که بدون استفاده از ترکیب‌های بهبوددهنده و تثبیت‌کننده رنگ مانند نیتریت‌سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، رنگ سوسیس از نظر مصرف‌کننده قابل قبول نیست. همچنین وقتی از نسبت‌های ۳ (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به ۱ (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۱ (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به ۱ (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیتریت‌سدیم به نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین جهت بهبود رنگ سوسیس استفاده گردد (تیمارهای C و D)، از نظر ارزیابان، تأثیر آن (بر رنگ) با زمانی که نیتریت‌سدیم به تنهایی (۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) وارد فرمولاسیون شود، برابر است. این مورد نه تنها از نظر ارزیابان، بلکه از طریق رنگ‌سنجی با دستگاه هم تائید شد که نتایج آن در بخش قبل ارائه گردید. به این طریق می‌توان نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین را جایگزین نیتریت سدیم کرد و مضرات این نگهدارنده سنتتیک و خطرناک را کاهش داد. نتایج دو شاخص بو و طعم نشان داد که اضافه‌کردن نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین به تنهایی (تیمار B) و با نسبت ۳ به ۱ به نتیریت‌سدیم (تیمار E) نمی‌تواند تغییر قابل توجهی در این دو شاخص نسبت به شاهد ایجاد کند. اما وقتی نسبت نانوکپسول به نیتریت‌سدیم به نسبت‌های ۱ به ۳ (C) و ۱ به ۱ (D) تغییر داده شود، دو شاخص مذکور مانند تیمار حاوی صرفا نیتریت‌سدیم (A) بهبود می‌یابند و در واقع بالاترین امتیاز در پذیرش کلی نیز مربوط به همین نسبت‌ها (تیمارها) می‌باشد. مطابق امتیازدهی ارزیابان، هیچ اختلافی بین تیمارهای فرموله‌شده از نظر بافت وجود نداشت. البته اگر پارامترهای بافتی با دستگاه بافت‌سنج مورد ارزیابی قرار گیرد، شاید نتیجه دیگری در این زمینه گزارش گردد. جمع بندی بخش ارزیابی حسی نشان داد که به‌طور کلی همه تیمارهای فرموله‌شده از نظر شاخص‌های ارزیابی حسی و همچنین پذیرش کلی در وضعیت مناسب و تا حدود زیادی مناسب قرار داشتند که این نتیجه مؤید کارائی بالای نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در جایگزینی نیتریت‌سدیم و کاهش اثرات مضر این نگهدارنده سنتتیک است. مقایسه شاخص‌های حسی مورد مطالعه در سوسیس‌ها در دو روز صفر و ۲۸ مؤید آن بود که خواص حسی تیمارهای فرموله‌شده بر خلاف شاهد در طول دوره نگهداری ثابت و بدون تغییر باقی می‌ماند (p>۰/۰۵). اما در تیمار شاهد، شاخص‌های رنگ و بافت در طول دوره نگهداری (۲۸ روز) با افت کیفیت و کاهش امتیاز مواجه شدند. با توجه به مثبت‌شدن نتایج تست‌های سنجش ایمنی سوسیس‌ها و ثبت انواع فساد در شاهد طی دوره نگهداری، دو شاخص بو و طعم در سوسیس‌ها در روز ۲۸ به‌دلیل احتمال آلودگی و انتقال بیماری مورد بررسی قرار نگرفتند.

جدول ۵- ارزیابی حسی تیمارهای تحقیق

Table 5- Sensory evaluation of research treatments

Treatments تیمارها	Time (day) زمان	Color رنگ	Smell بو	Taste طعم	Texture بافت	General acceptance پذیرش کلی
Control	0	3.61±0.45[c]	7.05±0.19[b]	6.29±0.23[b]	5.25±0.04[a]	5.44±0.39[c]
	28	2.26±0.32[d]	-	-	3.82±0.57[c]	-
A	0	8.12±0.24[a]	7.91±0.35[a]	8.23±0.12[a]	7.35±0.19[b]	7.95±0.21[a]
	28	8.1±0.32[a]	7.87±0.24[a]	8.2±0.14[a]	7.31±0.34[b]	7.93±0.23[a]
B	0	7.15 ±0.1[b]	7.08±0.1[b]	6.33±0.18[b]	7.21±0.57[b]	7.06±0.25[b]
	28	7.11 ±0.07[b]	7.03±0.09[b]	6.36±0.09[b]	7.32±0.71[b]	7.02±0.21[b]
C	0	8.11±0.06[a]	7.88±0.11[a]	8.26±0.14[a]	7.25±0.43[b]	7.99±0.1[a]
	28	8.12±0.08[a]	7.92±0.12[a]	8.23±0.16[a]	7.28±0.51[b]	7.96±0.12[a]
D	0	8.14±0.09[a]	7.85±0.28[a]	8.25±0.11[a]	7.29±0.86[b]	7.92±0.15[a]
	28	8.11±0.12[a]	7.89±0.19[a]	8.21±0.17[a]	7.3±0.62[b]	7.95±0.17[a]
E	0	7.18±0.11[b]	7.02±0.36[b]	6.31±0.32[b]	7.28±0.84[b]	7.09±0.08[b]
	28	7.14±0.18[b]	7.05±0.15[b]	6.28±0.26[b]	7.24±0.49[b]	7.04±0.1[b]

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (p<۰/۰۵).

Control: بدون نیتریت سدیم و نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، A: حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت سدیم، B: حاوی ۱۲۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، C: حاوی ۹۰mg/kg نیتریت سدیم + ۳۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، D: حاوی ۶۰mg/kg نیتریت سدیم + ۶۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین، E: حاوی ۳۰mg/kg نیتریت سدیم + ۹۰mg/kg نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

Different letters in each column indicate significant difference between the data (p<0.05).
Control: without sodium nitrite and nanocapsules carrier astaxanthin, A: 120 mg/kg sodium nitrite, B: 120 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, C: 90 mg/kg sodium nitrite + 30 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, D: 60 mg/kg sodium nitrite + 60 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin, E: 30 mg/kg sodium nitrite + 90 mg/kg nanocapsules carrier astaxanthin

نتیجه‌گیری

نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم به‌عنوان یک محصول طبیعی و دارای خواص بسیار زیاد در حفظ سلامتی، کنترل و پیشگیری از بیماری‌های مختلف، کارائی بالایی جهت جایگزینی نگهدارنده مضر و شیمیایی نیتریت‌سدیم در فرمولاسیون سوسیس دارند. به این صورت که اگر ۳۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ۱۲۰mg/kg حد مجاز نیتریت‌سدیم در فرمولاسیون سوسیس با نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین جایگزین شود، محصول حاصل از نظر زمان ماندگاری، مقابله با فساد اکسیداتیو و میکروبی، شاخص‌های رنگی و خواص حسی همانند محصول حاوی ۱۲۰mg/kg نیتریت‌سدیم است. البته اگر صرفا هدف مقابله با فساد اکسیداتیو باشد، دیگر نیازی به نیتریت‌سدیم نیست؛ چرا که مطابق نتایج، آستاگزانتین در این زمینه کارائی بیشتری نسبت به نیتریت‌سدیم دارد.

میزان مشارکت

سهیل ریحانی پول: انجام آزمایشات، نگارش، مدیریت و تحلیل داده ها، **سکینه یگانه:** مدیریت پروژه و داده‌ها، بررسی و ویرایش، **رضا صفری:** کنترل آزمایشات

منابع تأمین مالی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۳-۱۴۰۱-۰۳ انجام شد که به این وسیله سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Ambati, R.R., Siew Moi, P., Ravi, S., & Aswathanarayana, R.G. (2014). Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Marine Drugs*, *12*(1), 128-152. https://doi.org/10.3390/md12010128
2. AOAC. (2016). *Official Method of Analysis*, 20th Edition. International AOAC, Virginia 2016.
3. Abdelmalek, B.E., Sila, A., Ghlissi, Z., Taktak, M.A., Ayadi, M.A., & Bougatef, A. (2016). The influence of natural astaxanthin on the formulation and storage of marinated chicken steaks. *Journal of Food Biochemistry*, *40*(4), 393-403. https://doi.org/10.1111/jfbc.12224
4. Cadun, A., Cakli, S., & Kisla, D. (2005). A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. *Food Chemistry*, *90*(1-2), 53-59. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.024

5. Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G., & Zhao, Y. (2010). Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. *Food Chemistry*, *122*(4), 1035-1042.
6. Dong, S., Huang, Y., Zhang, R., Wang, S., & Liu, Y. (2014). Four different methods comparison for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *The Scientific World Journal*, 1-7. https://doi.org/10.1155/2014/694305
7. Dewati, P.R., Rohman, A., & Budiman, A. (2020). A preliminary study of extraction and purification processes of astaxanthin from *Haematococcus pluvialisas* a natural antioxidant. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 778, No. 1, p. 012032). IOP Publishing. https://doi:10.1088/1757-899X/778/1/012032
8. Egan, H., & Sawyer, R. (1997). *Pearson's chemical Analysis of food*. 9th. Edition, Edinburgh, Scotland, Churchill. Livingstone, UK, 609-634.
9. Fernández, J., Pérez-Álvarez, J.A., & Fernández-López, J.A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, *59*(3), 345-353.
10. Ferguson, L.R., Philpott, M., & Karunasinghe, N. (2004). Dietary cancer and prevention using antimutagens. *Toxicology*, *198*(1-3), 147-159. https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.01.035
11. Ghiretti, G.P., Zanardi, E., Novelli, E., Campanini, G., Dazzi, G., Madarena, G., & Chizzolini, R. (1997). Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production. *Meat Science*, *47*(1-2), 167-176.
12. Gimenez, B., Roncales, P., & Beltran, J.A. (2002). Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*(10), 1154-1159. https://doi.org/10.1002/jsfa.1136
13. Goulas, A.E., & Kontominas, M.G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, *93*(3), 511-520. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.040
14. Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S.A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 C. *Meat Science*, *76*(1), 172-181. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.026
15. Irna, C., Jaswir, I., Othman, R., & Jimat, D.N. (2017). Document details. *International Food Research Journal*, *24*, 508-513.
16. Jeya, S.R., Jeyasekaran, G., & Vijayalakshmi, S.K. (2005). Effect of vacuum packaging on the quality characteristics of seer fish (*Scomberomorus commersonii*) chunks during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, *42*(5), 438-443.
17. Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppett, S.L., Hanna, M.A., & Weller, C.L. (1997). Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chemistry*, *74*(2), 115-118. https://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.2.115
18. Kang, C.D., & Sim, S.J. (2007). Selective extraction of free astaxanthin from *Haematococcus* culture using a tandem organic solvent system. *Biotechnology Progress*, *23*(4), 866-871. https://doi.org/10.1021/bp0700354
19. Kilincceker, O., Dogan, I.S., & Kucukoner, E. (2009). Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT-Food Science and Technology*, *42*(4), 868-873. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.003
20. Khaleghi, A., Rezaei K., Kasai, M., Khosravi, K., & Soleymani, M. (2013). Evaluation of antioxidant properties of *Berberis crataegina* extract on fat oxidation of beef sausages during refrigerated storage. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, *7*(5), 345-353. (In Persian)
21. Liu, B.H., & Lee, Y.K. (2003). Effect of total secondary carotenoids extracts from *Chlorococcum* sp. on *Helicobacter pylori*-infected BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, *3*(7), 979-986. https://doi.org/10.1016/S1567-5769(03)00096-1
22. Liu, D.C., Tsau, R.T., Lin, Y.C., Jan, S.S., & Tan, F.J. (2009). Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chemistry*, *117*(1), 106-113. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.083
23. Liu, Z.W., Zeng, X.A., Cheng, J.H., Liu, D.B., & Aadil, R.M. (2018). The efficiency and comparison of novel techniques for cell wall disruption in astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Food Science and Technology*, *53*(9), 2212-2219. https://doi.org/10.1111/ijfs.13810
24. Moerck, K.E., & Ball Jr, H.R. (1974). Lipid autoxidation in mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Science*, *39*(5), 876-879. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1974.tb07265.x
25. Miki, W. (1991). Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, *63*(1), 141-146. https://doi.org/10.1351/pac199163010141
26. Moarefian, M., Barzegar, M., & Sattari, M. (2013). *Cinnamomum zeylanicum* essential oil as a natural antioxidant and antibactrial in cooked sausage. *Journal of Food Biochemistry*, *37*(1), 62-69. https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00600.x

27. Machado, A.R., Assis, L.M., Costa, J.A.V., Badiale-Furlong, E., Motta, A.S., Micheletto, Y.M.S., & Souza-Soares, L.A. (2014). Application of sonication and mixing for nanoencapsulation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in liposomes. *International Food Research Journal*, *21*(6), 2201-2206.
28. Mohammadpourfard, I., Khanjari, A., Akhonzadeh Basti, A., Herrero-Latorre, C., Shariatifar, N., & Hosseini, H. (2021). Evaluation of microbiological, chemical, and sensory properties of cooked probiotic sausages containing different concentrations of astaxanthin, thymol, and nitrite. *Food Science & Nutrition*, *9*(1), 345-356. https://doi.org/10.1002/fsn3.2000
29. Nam, K.C., & Ahn, D.U. (2003). Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. *Meat Science*, *63*(1), 1-8. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00043-8
30. Nourbehesht, N., Shekarchizadeh, H., & Soltanizadeh, N. (2019). Production and evaluation of low-fat frankfurter sausage by emulsion filled gel based on inulin and rice bran oil. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, *14*(2), 85-94. (In Persian with English abstrat)
31. Sallam, K.I., Ishioroshi, M., & Samejima, K. (2004). Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT-Food Science and Technology*, *37*(8), 849-855. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.04.001
32. Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K., & Houser, T.A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, *69*(2), 289-296. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.010
33. Sarada, R., Vidhyavathi, R., Usha, D., & Ravishankar, G.A. (2006). An efficient method for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(20), 7585-7588. https://doi.org/10.1021/jf060737t
34. Sun, W., Lin, H., Zhai, Y., Cao, L., Leng, K., & Xing, L. (2015). Separation, purification, and identification of (3S, 3′ S)- trans-astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Separation Science and Technology*, *50*(9), 1377-1383. https://doi.org/10.1080/01496395.2014.976873
35. Suganya, V., & Asheeba, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial activity of astaxanthin isolated from three varieties of crabs. *International Journal of Recent Scientific Research*, *6*(10), 6753-6758.
36. Seo, J.K., Parvin, R., Park, J., & Yang, H.S. (2021). Utilization of astaxanthin as a synthetic antioxidant replacement for emulsified sausages. *Antioxidants*, *10*(3), 1-11. https://doi.org/10.3390/antiox10030407
37. Safari, R., Mirbakhsh, M., Ghaffari, H., Reyhani Poul, S., Rahmati, R., & Ebrahimzadeh, M. (2022a). Effect of temperature, pH, and time factors on the stability and antioxidant activity of the extracted astaxanthin from *Haematococcus* microalgae (*Haematococcus pluvialis*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *31*(1), 109-120. (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2
38. Safari, R., Raftani Amiri, Z., Reyhani Poul, S., & Ghaffari, H. (2022b). Nanoencapsulation of phycocyanin extracted from the alga Spirulina (*Spirulina platensis*) and use of resulting nanoparticles in ice cream formulation. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, *123*(19), 145-159. (In Persian with English abstrat). http://dx.doi.org/10.52547/fsct.19.123.145
39. Tanaka, T., Morishita, Y., Suzui, M., Kojima, T., Okumura, A., & Mori, H. (1994). Chemoprevention of mouse urinary bladder carcinogenesis by the naturally occurring carotenoid astaxanthin. *Carcinogenesis*, *15*(1), 15-19. https://doi.org/10.1093/carcin/15.1.15
40. Tracy, R.P. (1999). Inflammation markers and coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology*, *10*(5), 435-441. https://doi.org/10.1097/00041433-199910000-00008
41. Toldrá, F., Aristoy, M.C., & Flores, M. (2009). Relevance of nitrate and nitrite in dry-cured ham and their effects on aroma development. *Grasas y Aceites*, *60*(3), 291-296.
42. Uchiyama, K., Naito, Y., Hasegawa, G., Nakamura, N., Takahashi, J., & Yoshikawa, T. (2002). Astaxanthin protects β-cells against glucose toxicity in diabetic db/db mice. *Redox Report*, *7*(5), 290-293. https://doi.org/10.1179/135100002125000811
43. Yuan, J.P., & Chen, F. (2000). Purification of trans-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Food Chemistry*, *68*(4), 443-448. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00219-8